تاثیر روش های متفاوت جابجایی (تور دستی و فیش پمپ) بر فاکتورهای خونی بچه ماهیان شانک اروپایی (*Sparus aurata*)

حمیده نجار هادویی، محمد کاظمیان* و حسین عمادی

گروه شیلات، دانشکده علوم و فنون دریایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۳/۲۱ تاریخ پذیرش:۱۳۹۶/۰۹/۰۳

چکیده

هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تاثیر جابجایی ماهیان با تور دستی و فیش پمپ بر روی ویژگی های ظاهری و فاکتورهای خونی بچه ماهیان شانک اروپایی در کارگاه تیاب پران قشم می باشد. جامعه آماری شامل ۱۵۰۰ عدد ماهی با میانگین وزنی ۱۰ گرم بود. در گروه شاهد، ماهیانی که در حال آرامش بوده و فاقد هرگونه تنش و فشاری بودند مورد بررسی قرار گرفتند.در تیمار دوم جابجایی و حمل ماهی ها با توردستی انجام گرفت و ماهیان تیمار سوم با استفاده از دستگاه فیش پمپ انتقال داده شدند. بر اساس نتایج بدست آمده در پارامترهای هماتولوژی مورد بررسی، بلافاصله بعد از جابجایی ماهیان، بیشترین تعداد گلبول های قرمز (۱/۴۹) و گلبول های سفید (۴۶/۹۱) در میلی متر مکعب، در نمونه های منتقل شده با فیش پمپ ثبت گردید. همچنین حداکثر مقدار لاکتات (۵۸/۴۶)، کورتیزول (۱/۳۲) بر حسب نانوگرم در میلی متر، گلوکز (۶۴/۰۱ میلی گرم در دسی لیتر) و کلر (۱۳۰/۵۵فتومتر) در تیمار مربوط به انتقال ماهیان به روش فیش پمپ حاصل شد. نتایج نشان داد که میزان تنشی که به ماهی درحین استفاده از فیش پمپ وارد می شود به نسبت بیشتر از زمانی است که از تور دستی استفاده می شود($P< ۰/۰۵$). البته استفاده از فیش پمپ سبب آسیب های مکانیکی و تلفات کمتری به ماهیان می شود. لذا جابجایی ماهیان با فیش پمپ با در نظر گرفتن تمهیدات لازم برای کاهش استرس، می تواند برای انتقال حجم بیشتری از ماهیان با آسیب مکانیکی قابل قبول، از روش های قابل اعتماد بشمار رود.

واژه گان کلیدی : فیش پمپ، استرس، فاکتورهای خونی

---

*نگارنده پاسخگو: **Aquaculture@Live.com**

مقدمه

دربسیاری از کارگاه های تکثیر و پرورش ماهی، انتقال ماهیان زنده عملکردی عمومی است. برای مثال می توان به موارد پس از برداشت، در هنگام رقم بندی یا گونه بندی، گرفتن ماهی در دوره کوتاه ذخیره سازی، ذخیره کردن در استخرهای یا مزارع دیگر برای تولید مثل یا رشد، حمل ماهیان زنده به فروشگاه و غیره اشاره نمود. با پرورش صنعت آبزی پروری و همچنین کاربرد قفس های عمیق در مقیاس وسیع، یک روش کارآمد برای انتقال ماهیان بیش از پیش معنی دار می شود (Xiao,2015).

با این حال، روش حمل و نقل سنتی، منجر به از دست دادن بخش بزرگی از ماهیان می شود و در نتیجه، پمپ فیش، به عنوان ابزار کمکی مهمی در حوزه آبزیان، می تواند بدون مداخله دستی، عمل انتقال را انجام داده و ضمن سلامت بیشتر ماهیان، جایگزین مناسب روش های سنتی باشد (Summerfelt *et al*.,2009).

تغییر در پارامترهای خونی ماهیان در مقابل شرایط زیست محیطی نیز پاسخی است بر استرس های محیطی و می تواند به عنوان یکی از شاخص های مهم مد نظر قرار گیرد (بحر کاظمی، ۱۳۹۵). لذا یکی از مسائل عمده در آبزی پروری بحث تنش (استرس) می باشد. منظور از استرس، عوامل فیزیکی، شیمیایی، زیستی و یا مدیریتی است که باعث بروز واکنش‌هایی در بدن شده و در موارد حاد منجر به بیماری یا مرگ آبزی می‌شود (Martinez Porchas *et al*.,2009).

حفظ کیفیت آب در زمان حمل و نقل ماهیان فاکتور اصلی و نیاز اولیه برای پرورش است. استرس با ایجاد اختلال در تعادل هومئوستاز باعث ایجاد اثرات مخرب در رفتار، رشد، تولید مثل، عملکرد سیستم ایمنی و مقاومت در برابر بیماری ها می شود (Chen *et al*., 2004). یکی دیگر از شاخص های تنش، هورمون کورتیزول است که به عنوان واکنش اولیه ماهیان به تنش درخون رها می شود. میزان هورمون کورتیزول پلاسما و تغییر در متابولیسم کربوهیدرات ها از قبیل میزان گلوکز، می تواند به عنوان شاخص عمومی تنش مورد استفاده قرار گیرد (Santos & Pacheco, 1996). تغییر درکیفیت آب، فاکتورهای محیطی، شرایط فیزیولوژیک خود ماهی و میزان تراکم ماهی در واحدحجم، هریک عاملی برای ایجاد تنش در ماهی هستند. تنش با مختل کردن تعادل سیستم های داخلی(هومئوستاز) باعث ایجاد اثرات مخرب در رفتار، رشد، تولیدمثل، عمل کرد سیستم ایمنی و مقاومت در برابر بیماری ها می شود. ماهیان طی فرایندی تحت عنوان پاسخ به تنش، تطابق های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی را در رویارویی با تنش نشان می دهند که سبب کاهش یا حذف اثرعامل تنش زا می شود (Koeypudsa & Jongjareanjai, 2011). دستگاه فیش پمپ در مزارع پرورش آبزیان و برای سهولت در انتقال بچه ماهیان و ماهیان بزرگتر مورد استفاده قرار می گیرد. در هنگام انتقال ماهیان با فیش پمپ، اکسیژن کافی از طریق انتقال دهنده ی (دیفیوزر) اکسیژن که در نزدیکی مکش آب قرار می گیرد، تامین می گردد. با این دستگاه هم می توان ماهیان را در مسافت های زیاد جا به جا کرد و هم تعداد زیادی از ماهیان را (حدود هشت تن در ساعت) جا به جا نمود. این روش به زمان و نیروی کار کمتری نیاز دارد. در استخرهایی که با هم اختلاف ارتفاع دارند و یا حمل و نقل در فاصله ی زیادی صورت می گیرد، این دستگاه به راحتی می تواند ماهیان را جا به جا نماید. تعداد محدودی فیش پمپ از سال ۲۰۱۲ وارد ایران شده است که در ابتدا برای کپور ماهیان، سپس برای قزل آلا و ماهیان دریایی مورد استفاده قرار گرفته است، ولی تحقیقی تاکنون بر روی آن صورت نگرفته است. بنابر این هدف از انجام تحقیق حاضر، با توجه به شرایط تنش زای جابجایی فیزیکی ماهیان پرورشی، بررسی معایب و مزایای استفاده از روش های متداول و فیش پمپ و مقایسه آنها از لحاظ فاکتورهای خونی می باشد.

مواد و روش ها

پژوهش حاضر درکارگاه تکثیر ماهی سیم دریایی در کارگاه تیاب پران قشم در روستای شیب دراز انجام گرفته است. ابتدا فاکتورهای دما، اکسیژن، شوری و pH آب سنجش شد و به تعداد ۵۰۰ عدد بچه ماهی شانک اروپایی (*Sparus aurata*)

در سه حوضچه ریخته شد و اجازه داده شد تا به مدت ۱۵ روز با شرایط حوضچه ها سازش حاصل نمایند. از یکی از حوضچه ها به عنوان گروه شاهد (در حال آرامش)، حوضچه دوم برای انتقال با تور دستی با ابعاد ۱۸*۲۴*۲۴ سانتی متر و حوضچه سوم برای انتقال با فیش پمپ ساخت کارخانه FAIVER فرانسه استفاده گردید. پس از آن انتقال با تور دستی و فیش پمپ از یک کانال به کانال های دیگر در فاصله ای ۱۰۰متری صورت گرفت. سپس بلافاصله از هر گروه ۱۰۰ عدد ماهی در سطل آب دارای ۱۲۵ میلی گرم در لیتر عصاره ی گل میخک

بی هوش گردیدند. از نمونه های ماهی برای بررسی پاسخ های خون شناسی نسبت به تنش های حاصله از راه قطع ساقه دمی خون گیری شد و در نمونه های خون در لوله های کوچک آغشته به هپارین آزمایش های هماتولوژی (شش لوله) شامل شمارش گلبول های قرمز، گلبول های سفید، اندازه گیری هموگلوبین، هماتوکریت، میانگین حجم گلبول قرمز (MCV) ، میانگین هموگلوبین گلبول قرمز (MCH) ، میانگین غلظت هموگلوبین گلبول قرمز (MCHC) مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام آزمایش های ایمنی، خون ۱۲ بچه ماهی، شش عدد در هر لوله کوچک فاقد هپارین برای اندازه گیری لاکتات، کورتیزول، گلوکز و کلراید ریخته شد. نمونه های خون بلافاصله به فلاکس یخ منتقل و در کمتر از یکساعت به آزمایشگاه منتقل شدند. تمامی مراحل آزمایش با سه تکرار انجام گرفت.

روش های بررسی پارامترهای هماتولوژی

شمارش گلبول های سفید(WBC) و گلبول های قرمز (RBC): با کمک لام هموسیتومترنئوبار و محلول های رقیق کننده گاور و تورک شمارش و در آزمایشگاه (برحسب میلیون) اندازه گیری شد (Blaxhall and Daisley, 1973; Tanyer, 1985).

اندازه گیری هموگلوبین(HB): هموگلوبین با کیت مخصوص و به روش کلرومتریک با طول موج ۵۴۰nm در دستگاه اسپکتوفتومتر سنجش گردید(Haghighi, 2009).

اندازه گیری هماتوکریت (HCT):

اندازه گیری هماتوکریت نیز با کمک سانتریفیوژ با دور ۱۴۰۰۰ و به مدت ۱۵ دقیقه انجام گردید (Haghighi, 2009).

پارامترهای گلبول قرمز:

پارامترهای گلبول قرمز شامل حجم متوسط گلبول قرمز خون (MCV) برحسب فمتولیتر، 10^{-15} لیتر، هموگلوبین متوسط گلبول قرمز خون (MCH) غلظت متوسط هموگلوبین گلبول های قرمز خون (MCHC) با روش های Blaxhall & Daisley در سال ۱۹۷۳محاسبه شدند.

سنجش فاکتورهای ایمنی خون

سنجش گلوکز: اساس واکنش سنجش گلوکز با استفاده از روش گلوکز اکسیداز انجام گردید که روشی آنزیمی – کالریمتری است. برای این منظور ابتدا گلوکز با کمک آنزیم گلوکز اکسیداز اکسیده شد و H_2O_2 تولید گردید (Ruane *et al*., 2001).

سنجش کورتیزول:

این سنجش بر اساس واکنش آنتی ژن- آنتی بادی با استفاده ازروش آنزیم ایمونواسی(الایزا) از نوع مهار رقابتی بود(Ruane *et al*., 2001) .

سنجش لاکتات دهیدروژناز:

لاکتات با استفاده از روش آنزیمی و بر اساس رنگ سنجی (Sigma) اندازه گیری می شوند(Ruane *et al*., 2001) .

سنجش کلر:

این سنجش با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر انجام شد برای سنجش هر یون k ,Na, CL از فیلتر خاص استفاده گردید(Ruane *et a*l., 2001).

روش های آماری

برای تجزیه و تحلیل آماری داده های این تحقیق با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ی ۲۰ صورت گرفت. برای بررسی وجود و یا عدم وجود اختلاف معنی دار از نقطه نظر شاخص های محاسبه شده از روش آنالیز واریانس یک طرفه استفاده گردید و مقایسه داده ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اعتماد ۵ درصد تعیین گردید و برای بیان کیفیت تفاوت از آزمون LSD استفاده گردید.

نتایج

سنجش فاکتوهای آب

میانگین دمای روزانه آب ۲۳/۷ درجه سانتی گراد، شوری ۳۷/۶ قسمت در هزار، اکسیژن محلول در آب ۵/۲ میلی گرم در لیتر و پی اچ آب ۷/۳ بود.

سنجش میزان تلفات

پس از انتقال ماهیان با روش های مورد سنجش در این تحقیق، تعداد ۱۰۰ عدد ماهی از دو تیمار تور دستی و فیش پمپ بررسی شد و مشخص گردید، کمترین میزان تلفات

مربوط به روش انتقال دستی و کمترین میزان آسیب فیزیکی متعلق به روش انتقال با فیش پمپ بود (جدول ۱).

جدول ۱- نتایج تلفات حاصل از روش های مختلف انتقال ماهیان (فیش پمپ و دستی)

روش جابجایی	تلفات	آسیب مکانیکی به بدن
تور دستی	۵	۳
فیش پمپ	۱	۰

سنجش پارامترهای خونی

جدال های شماره(۲ و۳) نتایج آزمایش های CBC خون در ماهی سیم دریایی و جدول شماره (۴) نتایج آزمایش های ایمنی خون در ماهی سیم دریایی را نمایش می دهد. تمامی نمونه برداری ها یک دقیقه بعد از جابجایی انجام پذیرفت.

جدول۲- نتایج آزمایشCBC خون در ماهی سیم دریایی در طی روش های مختلف و بلافاصله بعد از جابجایی

ردیف	نمونه	شمارش گلبول های قرمز (میلیون در میلی متر مکعب)	هماتوکریت (درصد)	هموگلوبین (گرم در دسی لیتر)	میانگین هموگلوبین گلبول قرمز(پیکوگرم)	میانگین حجم گلبول قرمز(فمتولیتر)	میانگین غلظت هموگلوبین گلبول قرمز(گرم در دسی لیتر)	شمارش گلبول های سفید(میلیون در میلی متر مکعب)
۱	شاهد	۱/۱۰	۳۳/۵۰	۱۱/۰۴۵	۸۳/۲۰	۲۸۳/۰	۲/۲۰	۴۱/۸۵
۲	توردستی	۱/۴۰	۳۴/۱۰	۱۱/۴۰	۸۹/۴۶	۲۹۴/۵	۲/۶۱	۴۴/۵۰
۳	فیش پمپ	۱/۴۹	۳۶/۷۵	۱۱/۷۵	۹۲/۷۵	۳۰۳/۵	۲/۵۴	۴۶/۹۱

جدول۳- نتایج آزمایش درصد لنفوسیت، نوتروفیل، ایئوزینوفیل و مونوسیت خون در ماهی سیم دریایی طی روش های مختلف و بلافاصله بعد از جابجایی

ردیف	نمونه	لنفوسیت(٪)	نوتروفیل (٪)	ایئوزینوفیل(٪)	مونوسیت(٪)
۱	شاهد (در حال آرامش)	۶۱/۰	۳۷/۵	-	۰
۲	توردستی	۵۸/۵	۳۹/۵	-	۱
۳	فیش پمپ	۵۴/۰	۴۴/۰	-	۳

جدول شماره ۴ - نتایج آزمایش های ایمنی خون در ماهی سیم دریایی و بلافاصله بعد از جابجایی

ردیف	نمونه	لاکتات (نانوگرم در میلی لیتر)	کورتیزول (نانوگرم در میلی لیتر)	گلوکز(میلی گرم در دسی لیتر)	کلر(فتومتر)
۱	شاهد	۳۰/۵۰	۰/۰۸	۴۸/۵۰	۱۲۱/۸۰
۲	توردستی	۵۳/۰۸	۱/۰۶	۶۲/۰۰	۱۲۸/۵۹
۳	فیش پمپ	۵۸/۴۶	۱/۳۲	۶۴/۰۱	۱۳۰/۵۵

آنالیز واریانس تفاوت آماری معنی داری در میزان هماتوکریت و هموگلوبین بین تیمارها و گروه شاهد نشان نداد و در فاکتورهای خونی بین سه گروه (در حال آرامش، توردستی، فیش پمپ) اختلافی دیده نشد ($P\geq$ ۰/۰۵). در میزان شمارش گلبول قرمز، میانگین هموگلوبین گلبول قرمز، میانگین حجم گلبول قرمز، گلبول های سفید، لنفوسیت، لاکتات، هتروفیل، کورتیزول، گلوکز وکلر در دو تیمار بررسی شده اختلاف معنا داری با گروه شاهد بدست آمد. یعنی به ترتیب ماهیانی که در حال آرامش بودند استرس کمتر سپس ماهیانی که با تور دستی جابه جا شده بودند از ماهیان در حال آرامش تنش بیشتری داشتند و در نهایت ماهیانی که با دستگاه فیش پمپ حمل شده بودند از دو گروه دیگر تنش بیشتری داشتند.

اثر فیش پمپ روی فاکتورهای خونی ماهی سیم دریایی در تحلیل LSD :

با توجه به نتایج تحلیلی بین گروه ها هیچ اختلاف معنی داری در میزان هموگلوبین خون بچه ماهیان وجود نداشت. در گلبول قرمز، لاکتات، کورتیزول و گلبول سفید اختلاف بین هر سه گروه مشاهده شد. میانگین هموگلوبین گلبول قرمز خون، میانگین حجم گلبول قرمز و میانگین غلظت هموگلوبین گلبول قرمز، کلر و گلوکز ماهیانی که در حال آرامش بودند با دو گروه دیگر اختلاف داشتند ولی در ماهیانی که با توردستی و دستگاه فیش پمپ جابه جا شدند اختلاف معنا داری بدست نیامد. میزان هماتوکریت، لنفوسیت و هتروفیل در ماهیانی که با تور دستی و دستگاه فیش پمپ جابه جا شدند اختلاف معنا داری نشان داد.

اثر فیش پمپ روی فاکتورهای خونی ماهی سیم دریایی در تحلیل دانکن :

بر اساس آزمون دانکن در میزان فاکتورهای هماتوکریت و هموگلوبین بین سه گروه اختلاف معنا داری وجود نداشت لیکن در میزان گلبول قرمز، گلبول سفید، لاکتات وکورتیزول در هر سه گروه مورد آزمایش تفاوت معنی داری بدست آمد. تنش در ماهیان گروه شاهد کمتر و ماهیانی که با دستگاه فیش پمپ جابه جا شده بودند از تنش بیشتری برخوردار بودند.

بحث و نتیجه گیری

استفاده از فیش پمپ، می تواند باعث وارد شدن آسیب های مکانیکی کمتر به ماهی گردد چراکه هنگام جا به جایی، حجم زیادی ماهی روی هم قرار نگرفته و دچار کمبود اکسیژن نمی شدند زیرا هم انتقال آن ها در داخل آب صورت می گرفت و هم اکسیژن کافی دریافت می کردند. بدین صورت که داخل استخری که عمل انتقال انجام داده می شود یک پخش کننده اکسیژن در نزدیکی مکش آب قرار می گیرد تا آب اکسیژن کافی را دریافت کند و تلفات کمتر نیز مشاهده شد. Xiao و همکاران در سال ۲۰۱۵ در بررسی خود به این نتیجه رسیدند که انتقال ماهیان به روش فیش پمپ، به دلیل آنکه این نوع نسبت به سایر پمپ ها فاقد چرخ دنده است، می تواند اندازه های مختلف ماهی را بدون آسیب رساندن جابه جا کند و این نتایج مشابه، نتایج حاضر در بررسی فیش پمپ بود.

در بررسی حاضر، بیشترین میزان هماتوکریت بر حسب درصد و هموگلوبین خون بر حسب g/dl مربوط به ماهیانی که با دستگاه فیش پمپ جا به جا شده بودند و کمترین میزان هماتوکریت و هموگلوبین خون مربوط به ماهیان گروه شاهد بود که در حال آرامش بودند، نتایج این پژوهش با یافته‌های

Benfey و Biron (2000) مطابقت نشان می دهد. فاکتورهای خونی در ماهی به عنوان نشان‌گرهای فیزیولوژیکی واکنش به استرس بسیار استفاده می‌شوند(Cataldi *et al* ،1998) هماتوکریت خون به عنوان یکی از مهم ترین شاخص ها در تعیین سلامت و بیماری ماهیان مورد استفاده قرار می گیرد (Chen *et al*., 2004). همچنین در تحقیق حاضر بیشترین میزان گلبول های قرمز در تیمار فیش پمپ به میزان ۱/۴۹ میلیون در میلی متر مکعب ثبت شد که با تحقیق فلاحتکار و همکاران در سال ۱۳۹۵ که بر روی بچه ماهیان کپور نقره ای در دستکاری های ناشی از صید انجام شده است تطابق دارد، در واقع در ماهیان با افزایش هموگلوبین و هماتوکریت ظرفیت حمل اکسیژن افزایش یافته و اکسیژن رسانی بهتری برای بافت ها جهت سوخت و ساز بیشتر تامین می شود. از سویی هموگلوبین خود شاخص مناسبی برای تعیین پدیده غلیظ شدن و یا رقیق شدن خون در زمان رویارویی ماهیان با استرس‌های حاد نظیر شوری‌های بالا می‌باشد. علت افزایش هموگلوبین یا هماتوکریت در طول استرس می‌تواند ناشی از یکی از عوامل کاهش حجم پلاسما، تورم گلبول‌های قرمز و آزاد شدن تعداد بیشتری اریتروسیت در خون از بافت های خون‌ساز باشد. تغییر هر یک از شاخص‌های اشاره شده سبب تغییر هماتوکریت می شود و تنها تغییر در حالت اول و سوم قادر به تغییر غلظت هموگلوبین خون است.(Benfey & Biron, 2000) .

نتایج نشان داد که بیشترین میزان میانگین حجم گلبول قرمز(MCV) ۳۰۳/۵ بر حسب fl و بیشترین میانگین هموگلوبین گلبول قرمز یا MCH ۹۲/۷۵ بر حسب pg مربوط به ماهیانی است که با دستگاه فیش پمپ جا به جا شده اند و کمترین میزان هم مربوط به ماهیان گروه شاهد بود و کمترین میزان غلظت هموگلوبین گلبول قرمز یا MCHC ۲/۲ بر حسب g/dl در سیم دریایی مربوط به ماهیان تیمار یک بود که با تور دستی جا به جا شده بودند. این نتایج با تحقیق فلاحتی و همکاران در سال ۱۳۹۵ تطابق دارد و بر اساس داده های بدست آمده، بین MCV و هماتوکریت ارتباط معنی داری وجود دارد. همچنین بین MCV و MCHC رابطه معنی داری ثبت شد که به علت ارتباط عکس بین این دو می باشد. البته لازم به ذکر است پایین بودن میزان MCV یک پارامتر خونی مثبت است، زیرا با کوچک شدن حجم گلبول قرمز حرکت آن ها در داخل رگ های خونی آسان تر و سریع تر می گردد و احتمال لخته شدن خون کم تر می شود. شاخص های گلبولی (MCV, MCH, MCHC) تابعی از تعداد گلبول های قرمز، هماتوکریت و هموگلوبین هستند که با تغییر در مقدار فاکتورهای هماتولوژیکی خون تغییر می یابند. تغییر در این پارامترها می تواند ناشی از تغییر تعداد و ابعاد در گلبول های قرمز و میزان ذخیره هموگلوبین آن و از طرف دیگر تحت تاثیر تغییرات حجم پلاسما باشد، همچنین تغییر شاخص های محاسبه ای گلبول های قرمز بیشتر مربوط به تغییر عوامل فیزیولوژیکی و محیطی است (Ruane *et a*l., 1999).

نتایج نشان دادند در ماهی سیم دریایی بیشترین میزان گلبول سفید خون در (میلون در میلی متر مکعب ۴۶/۹۱) مربوط به ماهیانی بود که با دستگاه فیش پمپ جا به جا شده بودند و کمترین میزان گلبول سفید خون در میلی متر مکعب مربوط به گروه شاهد بود. در تحقیق دیگری که بر ماهی بنی در اثر استرس شوری انجام شده است با افزایش میزان شوری روند افزایشی گلبول های سفید نیز مشاهده شده است (مصباح و همکاران، ۱۳۹۴). در صورت مواجهه جاندار با شرایط تنش، تعداد گلبول های سفید افزایش یافته که به این پدیده لکوسیتوزیس گفته می شود. اما در صورت رویارویی جاندار با استرس های حاد، به طور معمول تعداد آنها کاهش یافته که به این حالت لکوپنیا گویند(Benfey & Biron , 2000).

بیشترین میزان نوتروفیل(۴۴ درصد) مربوط به ماهیان تیمار دو بود که با دستگاه فیش پمپ جابه جا شده بودند و کمترین میزان مربوط به ماهیان گروه شاهد (۳۷/۵ درصد) در حال آرامش بود. بیشترین میزان لنفوسیت (۶۱ درصد) مربوط به ماهیان گروه شاهد بود که در حال آرامش بودند، در حالی که کمترین میزان لنفوسیت (۵۴ درصد) مربوط به ماهیانی بود که با دستگاه فیش پمپ جا به جا شده بودند، روند این تغییرات مطابق با تحقیقی که بر پاسخ به استرس اسارت در بچه ماهیان کپور نقره ای انجام شده بود، می باشد (فلاحتکار و همکاران، ۱۳۹۵). به جهت آنکه بیش از ۹۰ درصد میزان گلبول های سفید را نوتروفیل ها و لنفوسیت ها تشکیل داده اند ارتباط نزدیکی بین این دو پارامتر برقرار است (Mazandarani *et al*., 2015). به طور معمول ماهیانی که تحت تأثیر تنش قرار گرفته اند، کاهش تعداد گلبول های سفید به ویژه لنفوسیت ها دیده می شود (Balabanova *et al*., 2009) پدیده کاهش لنفوسیت به عنوان یک اثر ثانویه تنش، مربوط به آزادسازی کتکول آمین ها است. به علت بالابودن تنش القا شده، کورتیزول پلاسمابه طور مستقیم بر

لنفوسیت ها اثر سیتولیتیک دارد(Brett, 1958). مقدار ایئوزینوفیل در تمامی تیمارهای این تحقیق صفر بوده و در واقع بررسی های اندکی در مورد افزایش ائوزینوفیل ها انجام شده است. به طور کلی میزان ائوزینوفیل ها در خون ماهیان پایین بوده و در شرایط طبیعی۲تا ۳درصد از کل لوکوسیت ها را تشکیل می دهد و به ندرت گزارشاتی مبنی بر۱۰ درصد دیده شده است از این رو این شاخص، شاخص قابل اعتمادی نیست(Brett, 1958).

کمترین میزان مونوسیت در گروه شاهد با مقدار صفر و بیشرین آن در تیمار فیش پمپ (۳ درصد) بدست آمد. کاهش مقدار مونوسیت ها نیز در اثر استرس ناشی از افزایش تراکم در ماهیان قزل آلای رنگین کمان (*Onchorhynchus mykiss*) توسط مومنی و همکاران در سال ۱۳۹۶ نیز گزارش شده است. احتمال می رود تغییرات فاکتورهای هماتولوژی به واسطه شرایط استرس زا بوده که متابولیسم و عملکرد طبیعی فیزیولوژی ماهیان را دچار اختلال می نماید.

بیشترین میزان کورتیزول خون مربوط به ماهیان تیمار دوم بود که با دستگاه فیش پمپ جا به جا شده بودند وکم ترین میزان آن مربوط به ماهیان گروه شاهد در حال آرامش بود. در مطالعه ی نعمت الهی در سال ۱۳۸۹ نیز، تنش اسارت در تور بر کپور معمولی سبب افزایش معنی داری در میزان کورتیزول پلاسما در مدت زمان ۵ دقیقه، ۲۰ دقیقه، یکساعت و سه ساعت شده است.

اندازه گیری دو شاخص گلوکز و کورتیزول در مطالعات استرس ماهیان به طور گسترده مورد استفاده قرار می گیرد. در این مطالعات کورتیزول به عنوان شاخص استاندارد استرس و گلوکز به عنوان شاخص ثانویه پاسخ به استرس مطرح می باشد (Kubilay & Ulukoy, 2002). هنگام مواجه شدن ماهیان با تنش، پدیده تجزیه و تخلیه گلیکوژن کبدی وکاهش وزن آن به منظور افزایش قند خون و تأمین انرژی برای بافت ها روی می دهد که این روند در هپاتوسیت های ماهی قزل آلای رنگین کمان به هنگام تنش به اثبات رسیده است(Vijayan & Periera, 1997). افزایش سطح کورتیزول به عنوان شاخص اصلی پاسخ به تنش درنظرگرفته می شود (Mc Donald & Milligan, 1992). به نظر می رسد افزایش میزان کورتیزول در پاسخ به عامل تنش بوده و یک فاکتور مهم در غلبه جاندار به شرایط نامناسب زیستی می باشد.

بیشترین میزان گلوکز خون در تحقیق حاضر مربوط به ماهیان تیمار۲ بود که با دستگاه فیش پمپ جا به جا شده بودند و کم ترین میزان آن در ماهیان گروه شاهد ثبت شد. در تحقیق دیگری، میزان قند خون در ماهی کپور نیز طی اسارت و حتی پس از آزادی افزایش معنی دار یافته و تا ۴۸ ساعت پس از آزادی نیز نسبت به شاهد بالا بوده است (نعمت الهی، ۱۳۸۹) همچنین در ماهی آزاد آتلانتیک پس از یک تنش اسارت ۹ دقیقه ای میزان گلوکز نیز افزایش و پس از ۲۴ ساعت از آزادی ماهی، به سطح پایه برگشت (Waring *et al.*,1996). یکی از پاسخ های ثانویه ای که اندازه گیری آن بسیار متداول است، اندازه گیری گلوکز خون به عنوان معیار اندازه گیری غیر مستقیم هورمون تنش است. گلوکز کربوهیدراتی است که دارای نقش مهمی در تولید انرژی جانوران با تولیدATP دارد. تحت شرایط تنش زا، کاتکول آمین و کورتیزول با تاثیر بر کبد سبب القا گلیکولیز یا گلوکونئوژنزیز می شود و در نتیجه میزان گلوکز پلاسما افزایش می یابد(Axelrod & Reisine, 1984).

بیشترین میزان لاکتات خون مربوط به ماهیان تیمار۲ بود که با دستگاه فیش پمپ جا به جا شده بودند و کم ترین میزان آن مربوط به ماهیان گروه شاهد بود که در حال آرامش بودند. الگوی مشابهی از تغییرات لاکتات نیز در ماهیان فلاندر، آزاد اقیانوس اطلس و کفشک گزارش شده است (Waring *et al.*, 1992) لاکتات دهیدروژناز(LDH) آخرین آنزیم مسیر گلیکولیز بی هوازی در مهره داران و یکی از آنزیم هایی است که در تشخیص آسیب های کبد، عضله و آبشش در ماهی کاربرد دارد. افزایش معنی دار میزان آنزیم LDH دربافت های کبد، کلیه، ریه ماهی قزل آلای رنگین کمان به هنگام تنش به اثبات رسیده است (Okolie & Iroanya ,2003).

کلر از یون های مهم در تنظیم اسمزی ماهیان به شمار می رود. بیشترین میزان کلر خون (۱۳۰/۵۵ فتومتر) در تیمار دوم بود که با دستگاه فیش پمپ جا به جا شده بودند و کم ترین میزان آن (۱۲۱/۸فتومتر) مربوط به ماهیان گروه شاهد بود. چنین افزایشی نیز در سایر تحقیقات انجام شده در اثر استرس وارده به ماهیان بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kuttum*) مشاهده شده است که یکی از دلایل احتمالی این پدیده افزایش ترشح هورمون های کاتکولامینی در ساعات اولیه پس از مواجهه با عامل استرس زا می باشد. این امر موجب کاهش مقاومت غشایی مویرگ‌های آبششی شده و با افزایش نفوذپذیری غشایی، بر

نرخ انتشار یونی، در نتیجه میزان یـون های کلر و همچنین برخی از یون های دوظرفیتی در بدن افزایش می‌یابند (محیسنی و همکاران، ۱۳۹۵). Wagnerدر سال ۱۹۹۴، در بررسی خود با عنوان پاسخ فیزیولوژی تنش ماهی قزل آلای رنگین کمان در انتقال به مخازن کامیون از طریق پمپ ماهی، روش نقاله و تور به این نتیجه رسیده بود که تمام روش های انتقال باعث کاهش معنی دار در کلر و افزایش سطح کورتیزول پلاسما، نسبت به حالت پایه بدون تنش می باشند. بر اساس تغییرات کلر پلاسما، روش نوار نقاله حداقل تنش را به ماهی وارد می کند.

نتایج حاکی از آن است که استرس روش های جابجایی در ماهیان مورد مطالعه در ابتدا با پاسخ های اولیه یعنی افزایش کورتیزول و سپس همراه با پاسخ های ثانویه که شامل افزایش میزان گلوکز، لاکتات و کلر می باشد، که در نهایت جاندار را در مقابل عامل استرس حمایت می کند. لذا با انتخاب روش مناسب انتقال بچه ماهیان شانک اروپایی، میزان تلفات و آسیب های فیزیکی کاهش یافته و با از بین رفتن زمینه بروز بیماری‌ها، امکان رشد بیشتر آن‌ها فراهم می‌شود. بنابراین کاربرد فیش پمپ با در نظرگرفتن شرایط، بعنوان جایگزین مناسب روش های سنتی انتقال ماهیان برای پرورش و بهره برداری پیشنهاد می گردد.

منابع

بحر کاظمی، م. ۱۳۹۵. بررسی تاثیر تراکم ذخیره سازی بر پارامترهای رشد، فاکتورهای ایمنی و میزان استرس در ماهی آزاد دریای خزر. *مجله پژوهش های جانوری*، ۲۹(۴): ۵۲۰-۵۱۵.

فلاحتکار، ب.، راهداری ع. و باقرپور، ا. ۱۳۹۵. پاسخ های استرس و خون شناسی بچه ماهی کپور نقره ای به دستکاری های ناشی از صید. *مجله فیزیولوژی و بیوتکنولوژی آبزیان*، ۴(۲): ۷۳-۵۷.

محیسنی، .، فارابی، س.م و.، بنایی م. و نعمت دوست حقی، ب.۱۳۹۵. اثر گرسنگی بر تغییر الکترولیت‌های بدن بچه ماهی سفید دریای خزر (*Rutilus frisii kuttum*) طی سازگاری با آب شور. *نشریه توسعه آبزی پروری*، ۱۰(۴): ۱۲۴- ۱۱۱.

Cataldi, E., Di Marco, P., Mandich, A. & Cataudella, S. 1998. Serum parameters of Adriatic sturgeon. *Acipenser naccarii* (Pisces: Acipenseriformes): effects of temperature and stress. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 121: 351-354.

Chen, C., Wooster, G.A. & Bowser, P.R. 2004. Comparative blood chemistry and histopathology of tilapia infected with Vibrio vulnificus or Streptococcus iniaeor exposed to carbon tetrachloride, gentamicin or copper sulphate. *Aquaculture*, 239: 421-443.

Haghighi, M. 2009. Laboratory Methods of Fish Hematology. Iranian Fisheries Research Organization Publication. Tehran, Iran.

Koeypudsa, W. & Jongjareanjai, M. 2011. Impact of water temperature and sodium chloride (NaCl) on stress indicators of hybrid catfish (Clarias gariepinus, Burchell x C.macrocephalus, Gunther). *Songklanakarin*

مصباح، م.، محمدیان، ت.، کرمی، ا.، ملایم رفتار، ط. و نظری، م.۱۳۹۴. بررسی اثرات استرس شوری بر برخی شاخص‌های خونی و هورمون کورتیزول در ماهی بنی *Mesopotamichthys Sharpeyi* . *مجله بوم شناسی آبزیان*، (۲) ۵: ۷۸-۶۸.

مومنی، و.، قلیچی، ا. و جرجانی، س. ۱۳۹۶. نقش تغییر تراکم بر برخی فراسنجه‌های رشد و خون‌شناسی ماهی قزل آلای رنگین‌کمان(*Onchorhynchus mykiss*). *نشریه توسعه آبزی‌پروری*، ۱۱(۳):۱۲۲- ۱۱۱.

نعمت الهی، م. ع. ۱۳۸۹. پاسخ به استرس اسارت در تور در ماهی کپور معمولی. نشریه شیلات، مجله منابع طبیعی ایران. ۶۳(۱): ۵۵-۴۶.

Axelrod, J.& Reisine, T.D. 1984. Stress hormones: their interaction and regulation. *Science*, 4;224(4648):452-459.

Balabanova, L.V., Mikryakov, D.V. & Mikryakov, V.R. 2009. Response of common carp (*Cyprinus carpio* L.) leucocytes to hormoneinduced stress. *Inland Water Biology*, 2(1): 86-88.

Benfey, T. C. & Biron, M. 2000. Acute stress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*). *Aquaculture*, 184: 167- . 176.

Blaxhall, P.C. & Daisley, K.W.1973. Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology*, 5: 771-781.

Brett, J.R. 1958. Implications and assessments of environmental stress. In: The Investigation of fish power problems. Larkin, P.A. (e d). Institute of Fisheries. University of B.C.

Journal of Science and Technology, 33(4): 369-374.

Kubilay, A. & Uluköy, G. 2002. Effects of Acute Stress on Rainbow trout (*Oncorhynchusmykiss*). *Turkish Journal of Zoology*, 26: 249-254.

Martinez-Porchas, M., Martinez-Cordova, L.R. & Ramos-Enriquez, R. 2009. Cortisol and glucose: Reliable indicators of fish stress. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 4: 158–178.

Mc Donald, D.G. & Milligan, C.L. 1992. Chemical properties of the blood. *Fish Physiology*, 12: 55-133.

Mazandarani, M., Taheri Mirghaed, A. & Hoseini, S.M. 2015. Hematological characteristics and reproduction indices of wild beluga (*Huso huso*) brood stocks from the southeast of the Caspian Sea. *Iranian Journal of Vetetinary Medicine*, 9:65-71.

Okolie, N.P. & Iroanya, C.U. 2003. Some histologic and biochemical .evidence for mitigation of cyanide-induced tissue lesions by antioxidant vitamin administration in rabbits. *Food and Chemical Toxicology*,41:463-469.

Ruane, N. M., Huisman, E. A. & Komen, J. 2001. Plasma Cortisol and Metabolite Level Profiles in Two .sogenic Strains of Common Carp during Confinement. *Journal of Fish Biology*, 59: 1-12.

Ruane, N.M., Wendelaar Bonga, S.E. & Balm, P.H.M. 1999. Differences between rainbow trout browntrout in the regulation of the pituitary-interrenal axis and physiological performance during confinement. *General and Comparative Endocrinology*, 115: 210-219.

Summerfelt, S.T., Davidson, J. & Wilson, G. 2009. Advances in fish harvest technologies for circular tanks. *Aquatic Engineering*, 40 (2), 62–71.

Santos, M.A. & M. Pacheco. 1996.*Anguilla anguilla* L. Stress biomarkers recovery in clean water and secondarytreated pulp mill effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 35: 96–100.

Tanyer, G. 1985. Hematology and Laboratory. Ayyldz Matbaasi.A.S. Ankara.

Vijayan, M. M. & Periera, C. 1997. Metabolic responses associated with .confinement stress in tilapia: The role of cortisol. *Comparative Biochemistry* & *Physiology*, 116:89-95.

Wagner, E. J. & D. M. Driscoll. 1994. Physiological stress responses of cutthroat trout to loading by fish pump, conveyor, or dip net. *Journal of Applied Aquaculture*, 4: 19-27.

Waring, C. P., Stagg R. M. & Poxton M. G. 1992. The effect of handling on flounder, *Platichthys flesus* L., and Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Biology*, 41: 131-144.

Xiao. L, Long, X., Xu, M. & Wang, Q. 2015. Movement characteristics of fish in a jet fish pump. *Ocean Engineering*, 108: 480–492.

Effect of Different Displacement Methods (Fishing Net and Fish Pump) on Blood Parameters of *Sparus aurata*

Najar hadavi, H., Kazemian*, M. & Emadi, H.
Dept. of Fisheries, Faculty of Marine Science and Technology, Islamic Azad University, Tehran North Branch

Abstract
The aim of this study was to investigate the effect of fish displacement using fishing net and fish pump on the apparent characteristics and blood factors of *Sparus aurata* fishes in Tiyab Pran Qeshm workshop. The statistical population consisted of 1500 fish with an average weight of 10 g. In the control group, fish were kept calm and were not subjected to any tension and pressure. The second group consisted of a treatment in which the displacement was carried out using fishing net and the third group was the treatment in which a fish pump was used for transferring the fish. Regarding the hematological parameters, the highest number of red blood cells (1.49) and white blood cells (46.91) in cubic millimeters were recorded in fish samples displaced using the fish pump. Similarly, the maximum amount of lactate (58.66) and cortisol (1.32) in ng / ml, glucose (64.01 mg / dl) and chlorine (130.55 µm) were obtained in the treatment using the fish pump. The results of the study showed that the tensions that were introduced to the fish while using the fish pump were more compared with the treatment using fishing net ($p < 0.05$). However, the use of the fish pump caused less mechanical damage and less fish mortality, and more fish could be displaced using this method and during transfer fish did not suffer from lack of oxygen, as they were in the water during the transfer, and received enough oxygen. Therefore, displacement of fish with a fish pump, taking into account the necessary measures to reduce stress, can be considered as reliable methods for transferring more fish from acceptable mechanical damage.

Key words: Fish pump, stress, hematological factors

*Corresponding author: Aquaculture@Live.com